

蛋白質抗原sequential epitope の特徴とPIR

○志村 純子*、宮崎 智*
菅原 秀明*
Lunjiang Ling**、次田 皓**

The characteristics of sequential epitopes on protein antigen and PIR

○Junko Shimura*, Satoru Miyazaki*,
Hideaki Sugawara*,
Lunjiang Ling**, and Akira Tsugita**

The fine specificity of monoclonal antibodies is the indispensable information to the elucidation of the protein-ligand interaction. The data on the epitope of antigens have been desperately required in immunology, pharmacology and molecular biology because the epitope is specifically recognized by antibodies. With these interests, Epitope Data Bank has been developed as a feasibility study for supporting those fields. The record of Epitope Data Bank is a sequenced epitope locating on antigen molecule with links to PIR, GenBank/EMBL/DDBJ and HDB. The software for the retrieval of antigens and epitope sequences was also developed. Further link to PDB is under developing to support biologists to find proper reference structure for modeling of antibody structure.

モノクローナル抗体は特異性が高く、安定した品質と供給性から多くの生化学研究に用いられている。最近では蛋白質試薬開発のためによく用いられ、例えば、人工酵素のデザインの出発物質としたり、悪性腫瘍に対するヒト型抗体として治療薬の開発にも利用されている。すなわち、モノクローナル抗体に関する情報の有用性は一段と高くなってきている。

モノクローナル抗体に関する情報のなかで研究者にとってもっとも重要なものは抗体分子とそのリガンドである抗原の相互作用に関する情報である。リガンドに関する情報はハイブリドーマデータベース (HDB 図1) においては、REの (reactant) 行に詳しく項目が設けられ、生物種、系統、臓器、組織、細胞、細胞内器官、病態、株化細胞との反応性、ウイルス抗原との反応性、同定されている反応物質の名称、さらにその詳細な特異性 (糖鎖部分か、特定のサブユニットか、など)、あるいは抗原分子の生化学的性状、抗原分子の分子量、細胞抗原の場合は発

現時期、組織適合抗原あるいは血液型抗原の場合はそのタイプなどの情報が、適宜コメントを追加されて文字情報としては文献情報に次ぐほど詳細な内容として格納されている。

図1 HDBのレコード例

AN 2000066 RE 1.G>Escherichia coli 1.SN>recA 1.MW>38 kD 1.a.CC>bacteria 1.b.CC

Back Forward Home Reload Images Open Print Find Stop

Welcome Whats New? Whats Cool? Questions Net Search Net Directory

AN 2000066 RE 1.G>Escherichia coli 1.SN>recA 1.MW>38 kD 1

AN 2000066
 AU Makino O ; Shibata Y ; Shibata T ; Ikeda M ; Ando T
 AD Laboratory of Microbiology;
 AD RIKEN Institute;
 AD Institute of Physical and Chemical Research;
 AD Wako-shi, 351 Saitama;
 AD Japan;
 AD TEL 0484-62-1111 EXT 3431
 SO J Biol Chem 1985;260:15402-5
 DE C>ARM191 ;developer
 DE P>ARM191 ;developer
 IM G>Escherichia coli SN>recA a.CC>bacteria b.CC>protein
 RM ;multiple doses ;in vivo
 DO G>Mus musculus CH>mouse S>BALB/c O>spleen
 IP G>Mus musculus CH>mouse S>BALB/c T>bone marrow CE>B-lymphocyte PA>plasmacytoma CD>P3-I63
 PR ;fusion
 PD ;IgG1
 AS ;immunoblot ;ELISA
 RE 1.G>Escherichia coli 1.SN>recA 1.MW>38 kD 1.a.CC>bacteria 1.b.CC>enzyme 1.c.CC>protein
 AB P>ARM191 completely inhibits negatively superhelical DNA-
 AB dependent ATPase activity and D-loop formation but not affect
 AB on ss-ATPase activity
 LI RE is similar to P>ARM321, P>ARM414, P>ARM132, P>ARM193
 SD ARM191
 SD ARM191
 LD JPN LSB2047 ;JS
 EI DA:9001 CV:9005
 CI ;literature ;survey form

しかしながら、モノクローナル抗体の利用目的は、HDBの項目を設定した1984年ごろに比べると、はるかに微視的、定量的、となってきた。最近では、モノクローナル抗体によって認識される抗原上の部位、すなわちエピトープの属性を研究者がもとめる場合が少なくない。エピトープは、蛋白質抗原の場合にアミノ酸の1~数残基の置換によって反応性の消失がおこるかどうかを指標として同定されるきわめて微細な特異性の決定部位である。エピトープはまた、限定加水分解などによって得られた抗原分子のフラグメントが抗体に対するリガンド活性を示すかどうかによって決定される一次配列によって決められる場合もある。

蛋白質の一次配列データベースであるPIRは、このような蛋白質上のエピトープに関する情報を収集・保存する格好のデータベースであるが、1種類の蛋白質に関する配列データと、その蛋白質分子上に多数存在するエピトープ、エピトープの数と同数かそれ以上の数だけ存在するモノクローナル抗体、などの散在するデータを1対多のリンクをはって研究者に提供することが必要となってきた。そこで、International Workshop of Hybridoma Epitope Data (1993 Noda, Japan)において討議された方法に基づいて、これらのデータをPIRのデータ形式に格納し、手始めにHDB、

GenBank/EMBL/DDBJとリンクさせる試みをおこなった (図 2 Epitope Data Bank)。

図 2 Epitope Data Bank の出力例

```

1      AIDENKQKALAAALGQIEKQFGKGSIMRLGEDRSMDVETISTGSLSLDIALGAGGLPMGR      60
61     IVEIYGPESGKTTLTLQVIAAAQREGKTCAFIDAEHALDPIYARKLGVDIDNLLCSQPD      120
121    TGEQALEICDALARSGAVDVIVVDSVAALTPKAEIEGEIGDSHMGLAARMMSQAMRKLKAG      180
181    NLKQSNTELLIFINQIRMKIGVMFGNPETTTGGNALKFYASVRLDIRRIGAVKEGENVVGS      240
241    ETRVKVVKNKIAAPFKQAEFQILYGEINIFYGKVDLGVKEKLEKAGAWYSYKGEKIGQ      300
                                     aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa

301    GKANATAWLKDNPETAKEIEKKVRELLLSNPNSTPDFSVDDSEGVAETENEDF*      352
                                     aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa
                                     bbbbbbbbbbbbbbbbbbbb
  
```

COMMENTS for individual epitopes:

Epitope labeled by 'a' :This epitope is recognized by monoclonal IgG ARM191

Epitope labeled by 'b' :This epitope is recognized by monoclonal IgG ARM193

Epitope Data Bankにより、研究者はインターネット上に分散している抗体のデータ、抗原のデータ、抗原上のエピトープのデータを相互に参照しながら必要なデータを検索することが可能となった。

抗体の立体構造はX線結晶構造解析やNMR、グラフィックコンピュータを用いたモデリングなどにより多数のデータがPDBに登録されてきている。蛋白質試薬の設計や抗体の抗原結合親和性に関するシミュレーションを行うために、配列データだけでなく構造データも抗体を用いた研究の対象として利用されつつある (図 3)。したがって、抗体の特異的抗原認識という機能、抗体および、抗原またはエピトープの配列、そして抗体の抗原結合部位の構造の三者に関する情報を自由に取り扱う環境を整備することも今後の課題として大変重要となってきている。現在、実用段階に近づいているモデリングの手法としては、抗体分子の構造予測の場合、配列ホモロジーの高い参照構造をもちいて、エネルギーミニマイズにより候補構造を探索していく手法があげられよう。この手法による構造予測が成功するかどうかは、経験的にCDR領域の残基数と認識抗原の類似性に大きく依存することがわかっているため、これらの属性にもとづいて参照構造を検索していくツールの開発などが望まれる。

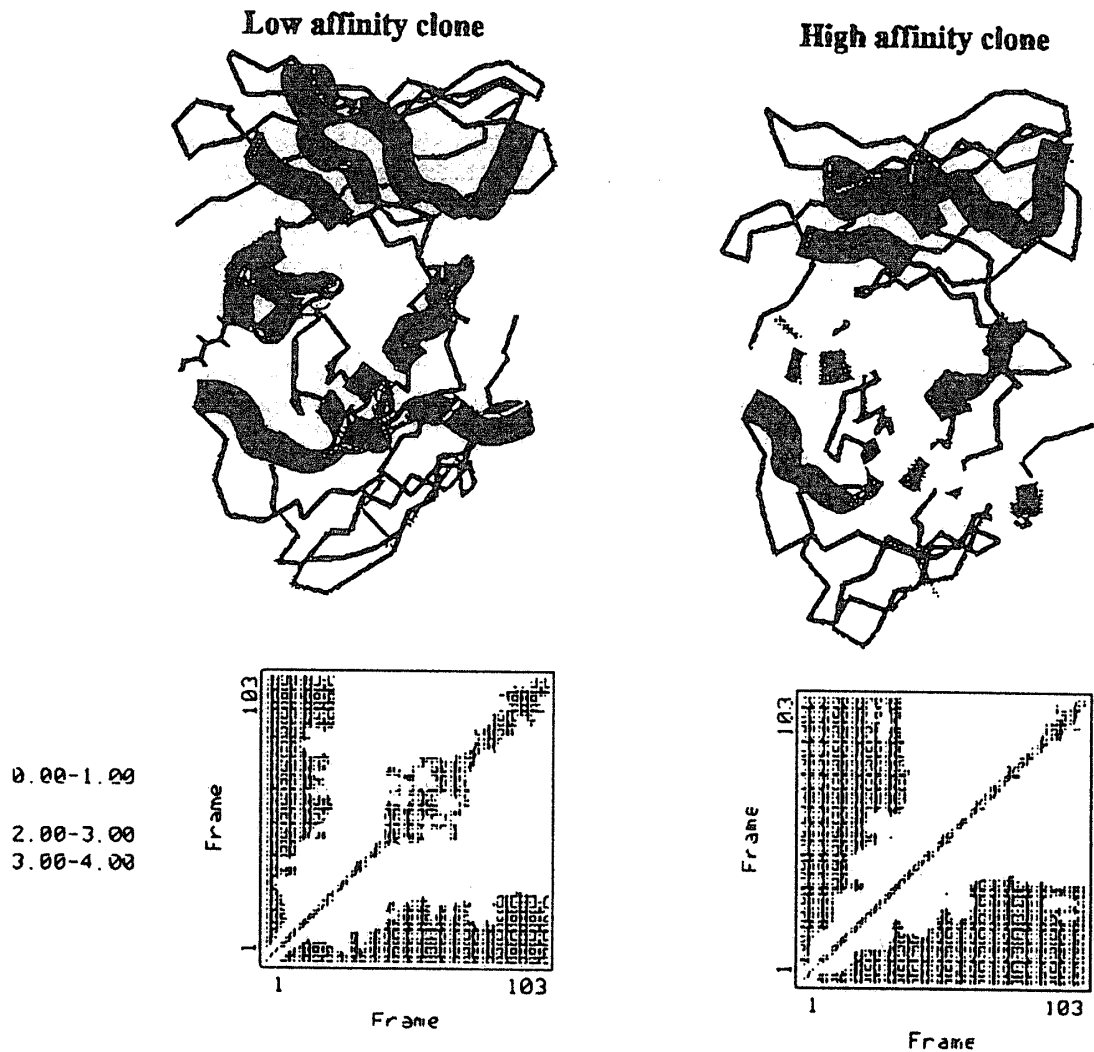


図3 抗体分子の構造と抗原結合親和性に関する研究
モデルとmolecular Dynamicsの結果

* 理化学研究所

The Institute of Physical and Chemical Research (RIKEN)

** 東京理科大学

Science University of Tokyo